

講演番号：4E073

発表日時：3月7日 13:15～14:15、発表場所：ポスター発表会場エリア E

共生関係にある難培養微生物ペアを網羅的に獲得する新規ハイスループット分離培養手法の開発
A new high throughput cultivation method for isolating uncultivable microorganisms requiring symbiotic partners

- 林 雅周¹、鈴木 陸太²、加藤 節²、中島田 豊^{2,3}、青井 議輝^{2,3}(¹広島大工、²広島大院統合生命、³広島大瀬戸内CNセンター)
○ Gashu Hayashi¹, Rikuta Suzuki², Setsu Kato², Yutaka Nakashimada^{2,3}, Yoshiteru Aoi^{2,3}
(¹Hiroshima Univ. Faculty of engineering, ²Hiroshima Univ., ³Hiroshima Univ. S-CNC)

環境中のほとんどの微生物は培養できない。その理由の一つとして共生関係など微生物間相互作用を増殖に必用とする難培養微生物の存在が挙げられるが、これまでにほとんど明らかになっていない。また、微生物間相互作用を要求する微生物を可培養化するためには微生物共生ペアを共培養系として獲得する必要があるが効率的に共培養系を獲得する手法はない。そこで本研究では、共生ペアを網羅的かつ高効率で獲得する新規手法を開発し、未培養微生物を獲得することを目的とした。本手法では、①直径 20um ほどの GMD (ゲルマイクロドロップレット) に環境中からランダムに 2-3 菌体ずつ封入することで多数 (10^8 個) の共培養系を構築する。②一定期間培養後、内部で微生物が増殖した GMD をセルソーターで分取し 2 次培養を行う。③ 2 次培養後、共培養でしか増殖しない微生物共生ペアを特定し選択的に取得する。本手法はピコリットルスケールでの培養を行うため、2-3 細胞間での相互作用を培養初期から実現することができるという特徴を持つ。実際に本手法を用いることで環境中から多様な未培養微生物の可培養化を実現できることが判明した。

Most microorganisms in the environment are uncultured. It can be assumed that one of major reasons for this is requiring microbial interactions such as symbiotic relationships with others, but this has not been clarified to date. To cultivate microorganisms requiring microbial interactions, it is necessary to obtain microbial symbiotic pairs as a co-culture, but there is no method to efficiently isolate such microorganisms as co-cultures. In this study, we developed a new high-throughput cultivation method for acquiring symbiotic pairs efficiently, with the aim of cultivation of uncultivated microorganisms. In this method, 1) GMD (Gel-Micro-Droplet, 20um in diameter) is used. GMDs are randomly encapsulated with 2-3 microbial cells to gain a vast number (10^8) of co-cultures. 2) After a certain period of incubation, the GMDs in which microorganisms have grown inside are selectively separated using a cell sorter followed by sub-cultivation. 3) After the sub-cultivation, the microbial symbiotic pairs that only grow in the co-culture are identified and selectively obtained. The uniqueness and advantage of this method is the capability to realize interaction between two or three cells from the early stage of culture because of the pico-liter scale culture. Indeed, diverse uncultivated microbial types are successfully isolated from the environment using this method.

Uncultured microorganisms, Micro-droplet, Co-culture

発表責任者：青井議輝 (yoshiteruaoi@hiroshima-u.ac.jp)